

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR2006/001077

International filing date: 23 March 2006 (23.03.2006)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR
Number: 10-2005-0108357
Filing date: 14 November 2005 (14.11.2005)

Date of receipt at the International Bureau: 10 April 2006 (10.04.2006)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office

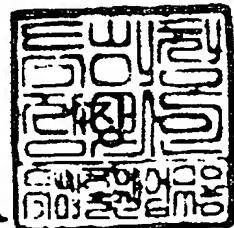
출 원 번 호 : 특허출원 2005년 제 0108357 호
Application Number 10-2005-0108357

출 원 일 자 : 2005년 11월 14일
Date of Application NOV 14, 2005

출 원 인 : 김영호
Applicant(s) kim young ho

2006 년 03 월 29 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

| | |
|------------|--|
| 【서류명】 | 특허출원서 |
| 【권리구분】 | 특허 |
| 【수신처】 | 특허청장 |
| 【제출일자】 | 2005. 11. 14 |
| 【발명의 국문명칭】 | 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법 |
| 【발명의 영문명칭】 | Method for enrichment of cells separated by magnet on cell suspension layer |
| 【출원인】 | |
| 【성명】 | 김영호 |
| 【출원인코드】 | 4-2005-023434-1 |
| 【발명자】 | |
| 【성명】 | 김영호 |
| 【출원인코드】 | 4-2005-023434-1 |
| 【취지】 | 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. |

출원인

김영호 (인)

【수수료】

| | | |
|-----------|-----------|----------|
| 【기본출원료】 | 0 면 | 38,000 원 |
| 【가산출원료】 | 43 면 | 0 원 |
| 【우선권주장료】 | 0 건 | 0 원 |
| 【심사청구료】 | 0 항 | 0 원 |
| 【합계】 | 38,000 원 | |
| 【강면사유】 | 개인(70%강면) | |
| 【강면후 수수료】 | 11,400 원 | |

【요약서】

【요약】

이 발명은, 세포혼합액 층의 상판부 측에서 자력을 인가하여 특정세포를 상판부에 특정세포 이외의 나머지 세포들을 하판부에 각각 위치하게 분리시킨 상태에서, 필요로 하지 않는 상판부 또는 하판부의 세포들을 모두 제거하거나 또는 새롭게 교체한 후 상기 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 층을 형성 및 균질화시키고 인가되는 자력에 의해 필요로 하는 세포 내에 포함되어 있는 필요로 하지 않는 세포들을 제거하여 순도를 높이는 방법의 제공을 그 목적으로 한다.

상기의 목적을 달성하기 위해 이 발명의 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법은, 분리된 상판부의 특정세포를 제거하거나 새로운 상판부로 교체하고, 어떠한 세포도 들어있지 않은 순수한 수용액을 상기 하판부에 적정량 보충 주입 수용한 후 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성 및 균질화시키는 것을 특징으로 한다.

【대표도】

도 7d

【명세서】

【발명의 명칭】

세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법

{Method for enrichment of cells separated by magnet on cell suspension layer}

【도면의 간단한 설명】

- <1> 도 1은 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치의 한 예를 개략적으로 도시한 것이고,
- <2> 도 2a 내지 도 2f는, 도 1의 장치를 사용하여 세포혼합액으로부터 세포를 분리하는 과정을 개념적으로 도시한 것이고,
- <3> 도 3a 및 도 3b는 이 발명의 실시 예들에 따른 세포혼합액으로부터 분리된 세포들의 순도를 높이기 위해 도 1의 장치 내부에서 하판부에 가해지는 진동을 발생시키는 예를 도시한 것이고,
- <4> 도 4a 및 도 4b는 이 발명의 한 실시 예에 따른 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포의 순도를 높이는 과정을 도시한 흐름도이고,
- <5> 도 5a 내지 도 5d는, 도 4a 및 도 4b의 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포의 순도를 높이기 위한 균질화 과정을 개념적으로 도시한 것이고,
- <6> 도 6a 및 도 6b는 이 발명의 다른 실시 예에 따른 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이는 과정을 도시한 흐름도이고,
- <7> 도 7a 내지 도 7f는, 도 6a 및 도 6b의 세포혼합액으로부터 분리된 특정세

포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이기 위한 균질화 과정을 개념적으로 도시한 것이다.

<8> <도면의 주요 부분에 대한 부호의 설명>

<9> 10 : 세포 분리 장치

<10> 11 : 상판부 12 : 하판부

<11> 13 : 자석 14 : 세포혼합액 수용 경계 띠

<12> 15 : 세포혼합액 수용 흠 16 : 상판부 이동 수단

<13> 17 : 하판부 이동 수단 18 : 제어부

<14> 19 : 챔버 20 : 세포혼합액

<15> 21 : 특정세포 22 : 마그네틱 비드

<16> 23 : 하판부 진동 발생 수단

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<17> 이 발명은 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 상판부와 하판부 사이에 형성된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액 층의 상판부 측에서 자력을 인가하여 상판부와 하판부에 각각 분리된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들 중에서 필요로 하는 세포내에 포함되어 있는 필요로 하지 않는 세포를 제거하여

순도를 높이는 방법에 관한 것이다.

<18> 도 1에 도시되어 있는 바와 같이, 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액 층을 상판부와 하판부 사이에 형성시키고, 상판부 측에서 자력을 인가하여 세포를 분리하는 세포 분리 장치(10)는, 상판부(11)와 하판부(12), 상판부(11)의 상측면에 설치되는 자석(13) 및 상판부 이동 수단(16)과 하판부 이동 수단(17)이 내부에 위치하는 개폐 가능한 챔버(19)와, 상기 세포 분리 장치(10)에서 세포 분리 과정을 자동으로 작동시키게 하는 경우에는 상기 상판부 이동 수단(16)과 하판부 이동 수단(17)을 제어하도록 연결 작동부(도면에 도시하지 않음)를 포함하여 상기 챔버(19)의 일 측에 설치되는 제어부(18), 그리고 이외에도 하부에 상기 제어부(18)의 제어 상태를 조작할 수 있게 설치되는 제어 패널이나 전면에 현재 작동 상태를 외부에 표시하기 위해 설치된 디스플레이 등으로 이루어진다.

<19> 상기 상판부(11)는 자력을 인가하기 위한 자석(13)이 상측면에 설치고, 상기 하판부(12)는 상기 상판부(11)와 세포혼합액이 층을 형성하거나 또는 층을 형성한 세포혼합액을 분리하는데 어려움이 없는 정도의 충분한 여유를 두고 하부에 위치하며, 상측면에 상기 세포혼합액(20)을 수용하는 세포혼합액 수용부(15)를 구비한다.

<20> 상기 세포혼합액 수용부(15)는, 상기 세포혼합액(20)이 주입 수용되는 부분으로 상기 세포혼합액(20)을 수용하는데 있어서 흡착 면적을 최대로 하여 흡착력을 극대화하기 위해 수직 벽면을 내부로 가면서 경사지게 흄의 형태로 형성시킬 수 있

다.

<21> 여기서, 일반적으로 상기 상판부 이동수단(16)은, 상기 상판부(11)의 일 측 단이나 양 측단 또는 상측면에 결합되어, 상기 상판부(11)를 상기 하판부(12)에 가까워지게 하부로 이동시키거나 또는 하판부(12)에서 멀어지게 상부로 이동시킨다.

<22> 이러한 상기 상판부 이동수단(16)은, 수동으로 상기 상판부(11)를 상하로 이동시키면서 세포혼합액 층을 최적으로 형성하거나 또는 형성된 세포혼합액 층을 없어지게 한다.

<23> 그런데, 사용 형태에 따라 자동으로 상기 상판부(11)를 상하로 이동시키는 경우에 상기 상판부 이동 수단(16)은, 상기 세포혼합액 수용부(15)에 수용된 세포 혼합액(20)이 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이에서 층이 형성되도록 상기 상판부(11)를 이동시켜 하판부(12)에 다가가게 상기 제어부(18)에서 제어되는 한편, 필요로 하는 세포의 분리가 최적화되도록 상기 상판부(11)를 이동시켜 상기 세포혼합액 층이 형성된 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이의 이격 거리를 조절하게 상기 제어부(18)에서 제어된다.

<24> 또한, 사용 형태에 따라 자동으로 상기 상판부(11)를 상하로 이동시키는 경우에 상기 상판부 이동 수단(16)은, 상기에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부(11) 측에서 자력을 인가하여 세포혼합액 층의 상판부(11) 측으로 이동된 특정세포와 세포혼합액 층의 하판부(12) 측으로 이동된 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층이 없어지면서 각각 분리되도록 상기 상판부(11)를 상부로 이동시켜

다시 하판부(11)에서 멀어지게 상기 제어부(18)에서 제어된다.

<25> 또한, 일반적으로 상기 하판부 이동수단(17)은, 상측면에 세포흔합액 수용부(15)를 구비한 상기 하판부(11)의 일 측단이나 양 측단 또는 하측면에 결합되어, 상기 상판부(11)의 하부에 마주하면서 위치하는 상기 하판부(12)를 사용자가 위치하고 있는 앞으로 나오게 이동시키거나 또는 앞으로 나오게 이동된 하판부(12)를 다시 상판부(11)와 서로 마주하게 뒤로 들어가게 이동시킨다.

<26> 이러한 상기 하판부 이동수단(17)은, 수동으로 상기 하판부(12)를 앞으로 나오게 이동시키면서 상기 세포흔합액 수용부(15)에 세포흔합액을 수용시키도록 하거나 또는 분리가 끝난 특정 세포 이외의 나머지 세포들이 채취될 수 있게 하는 한편, 세포흔합액 수용부(15)에 수용된 세포흔합액이 상기 상판부(11)와 서로 마주하도록 뒤로 들어가게 이동시킨다.

<27> 그런데, 사용 형태에 따라 자동으로 상기 하판부(12)를 앞뒤로 이동시키는 경우에 상기 하판부 이동 수단(17)은, 상기 세포흔합액 수용부(15)에 분리될 세포흔합액(20)을 주입 수용하거나 또는 분리가 끝난 특정세포 이외의 나머지 세포들이 채취될 수 있도록 상기 상판부(11)와 서로 마주하는 상기 하판부(12)를 앞으로 나오게 이동시키도록 상기 제어부(18)에서 제어되는 한편, 앞으로 나오게 이동된 상태의 세포흔합액 수용부(15)에 수용된 세포흔합액의 분리를 위해 상판부(11)와 서로 마주하도록 상기 하판부(12)를 뒤로 들어가게 이동시키도록 상기 제어부(18)에 서 제어된다.

<28> 그러나, 상기 세포 분리 장치(10)에서는, 상기 하판부 이동 수단(17)만을

작동하게 하는데, 상기 하판부 이동 수단(17)을 통해 상기 하판부(12)를 프론트로딩 방식으로 사용자가 위치하고 있는 앞으로 나오게 꺼낸 상태에서 상기 세포혼합액 수용부(15)에 세포혼합액(20)을 주입 수용한 후, 주입 수용된 세포혼합액(20)으로부터 세포를 분리시키기 위해 다시 뒤로 들어가게 넣어 상기 상판부(11)와 서로 마주하도록 위치시킨다.

<29> 다음으로, 다시 상기 하판부 이동 수단(17)을 통해 하판부(12)를 상판부(11)로 가까워지게 이동시켜 세포혼합액 층을 형성시키고, 최적의 분리 상태를 유지하도록 이격 거리를 조절한 후 형성된 세포혼합액 층의 상판부(11) 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포와 특정세포이외의 나머지 세포들을 각각 상판부(11)와 하판부(12) 측으로 이동시킨 상태에서 다시 하판부(12)를 상판부(11)와 멀어지게 이동시켜 분리한다.

<30> 다음으로, 상기 하판부 이동 수단(17)을 통해 특정세포 이외의 나머지 세포들이 분리되어 남아있는 하판부(12)를 사용자가 위치하고 있는 앞으로 나오게 꺼내어 상기 하판부 이동 수단(17)으로부터 분리시켜 특정세포 이외의 나머지 세포들을 채취하게 된다. 또한, 상기 상판부(11)는 상기 상판부 이동 수단(16)으로부터 분리시켜 특정세포를 채취하게 된다.

<31> 이러한 상기 세포 분리 장치(10)를 사용하여 필요로 하는 세포를 분리하는 과정을 도 2a 내지 도 2f를 참조하여 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

<32> 먼저, 분리하고자 하는 마그네틱 비드(22)가 부착된 특정세포(21)가 포함된 세포혼합액(20)을 상기 하판부(12)의 세포혼합액 수용부(15)에 주입 수용시킨 후

(도 2a), 수동으로 또는 상기 제어부(18)의 제어에 의해 상기 하판부 이동 수단(17)이 이동하면서 상기 하판부(12)를 상부로 이동시켜 상기 세포혼합액 수용부(15) 내에 주입 수용되어 있는 세포혼합액(20)이 상기 상판부(11)의 하측면에 흡착되면서 세포혼합액 층을 형성시킨다.(도 2b)

<33> 다음으로, 수동으로 또는 상기 제어부(18)의 제어에 의해 상기 하판부 이동 수단(17)이 이동하면서 하판부(12)를 하부로 이동시키면서 상기 세포혼합액 층이 형성된 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이의 이격 거리를 조절하여 세포의 분리가 최적화되는 상태를 유지시킨다.(도 2c)

<34> 다음으로, 상기 상판부(11)와 하판부(12)의 이격 거리가 최적으로 조절된 상태의 세포혼합액 층에 상기 자석(13)에서 인가되는 자력에 의해 상기 특정세포(21)가 세포혼합액 층의 내부에서 상기 상판부(11) 측으로 이동하게 되고, 이와 함께 특정세포 이외의 나머지 세포들은 중력에 의해 상기 세포혼합액 층의 내부에서 하판부(12) 측으로 이동되게 함으로써 세포혼합액 층의 내부에서 분리가 일어나게 된다.(도 2d)

<35> 다음으로, 수동으로 또는 상기 제어부(18)의 제어에 의해 상판부(11)와 하판부(12) 사이에 형성된 세포혼합액 층의 내부에서 상기 상판부(11)와 하판부(12)로 각각 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을 완전히 분리되게 하판부(12)가 다시 상판부(11)에서 멀어지도록 상기 하판부 이동 수단(17)을 이동시키게 되면(도 2e), 상기 상판부(11)와 하판부(12)에는 각각 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들로 분리되어 위치하므로, 이후 필요로 하는 세포를 채취하여 이용

할 수 있게 된다.(도 2f)

<36> 그러나, 상기의 분리 과정에서 상기 상판부(11)에 필요로 하는 특정세포 이외의 필요로 하지 않는 나머지 세포들도 함께 붙어 있는 경우에는 채취된 세포를 이용하여 하고자 하는 이후 단계의 실험에 나쁜 영향을 미치게 되므로 분리된 세포의 순도를 최대한 높여 이를 방지할 필요가 있게 된다.

<37> 여기서, 채취하고자 하는 필요로 하는 세포에는 일반적으로 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 많이 사용되어지지만, 임상으로 사용할 때 필요로 하지 않는 것을 특정세포로 지정하여 분리한 후 마그네틱 비드가 전혀 붙지 않은 특정 세포 이외의 나머지 세포들을 사용하는 경우도 있게 되고, 이 경우에도 분리된 세포의 순도를 최대한 높여 이를 방지할 필요가 있게 된다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<38> 이와 같은 상기의 문제점을 해결하기 위해 이 발명은, 세포혼합액 층의 상판부 측에서 자력을 인가하여 특정세포를 상판부에 특정세포 이외의 나머지 세포들을 하판부에 각각 위치하게 분리시킨 상태에서, 필요로 하지 않는 상판부 또는 하판부의 세포들을 모두 제거하거나 또는 새롭게 교체한 후 상기 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 층을 형성 및 균질화시키고 인가되는 자력에 의해 필요로 하는 세포 내에 포함되어 있는 필요로 하지 않는 세포들을 제거하여 순도를 높이는 방법의 제공을 그 목적으로 한다.

【발명의 구성】

<39> 상기의 목적을 달성하기 위해 이 발명의 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법은, 하판부에 수용된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액을, 상기 하판부의 상부에 마주하면서 위치하는 상판부로 하판부가 가까워지게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키는 단계와; 상기 단계에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부 측에서 자력을 인가하여 세포혼합액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 이와 함께 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계; 상기 단계에서 세포혼합액 층의 상판부 측과 하판부 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 상기 상판부와 하판부에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들이 각각 위치하게 분리시키는 단계; 상기 단계에서 특정세포 이외의 나머지 세포들이 위치하게 분리된 하판부에서 나머지 세포들을 제거하거나 새로운 하판부로 교체하고, 어떠한 세포도 들어있지 않은 순수한 수용액을 상기 하판부에 주입 수용한 후 상기 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 특정세포 수용액 층을 형성 및 균질화시키는 단계; 상기 단계에서 형성 및 균질화시킨 특정세포 수용액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포에 남아있던 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계; 및, 상기 단계에서 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 이동된 특정 세포를, 상기 상판부

로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 특정세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동된 특정 세포 이외의 나머지 세포들과 분리시키는 단계;로 이루어지는 것을 특징으로 한다.

<40> 바람직하게는, 상기 균질화시킨 특정세포 수용액 층의 상기 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계 이전에, 상기 하판부를 이동하여 상기에서 균질화된 특정세포 수용액 층을 형성하는 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하는 단계;를 추가로 수행하여도 좋다.

<41> 또한, 상기의 목적을 달성하기 위해 이 발명의 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법은, 하판부에 수용된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액을, 상기 하판부의 상부에 마주하면서 위치하는 상판부로 하판부가 가까워지게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키는 단계와; 상기 단계에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부 측에서 자력을 인가하여 세포혼합액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계; 상기 단계에서 세포혼합액 층의 상판부 측과 하판부 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 상기 상판부와 하판부에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들이 각각 위치하게 분리시키는 단계; 상기 단계에서 특정세포가 위치하게 분리된 상판부에

서 특정세포를 제거하거나 새로운 상판부로 교체하고, 어떠한 세포도 들어있지 않은 순수한 수용액을 상기 하판부에 적정량 보충 주입 수용한 후 상기 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성 및 균질화시키는 단계; 상기 단계에서 형성 및 균질화된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포 이외의 나머지 세포들에 남아있던 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계; 및, 상기 단계에서 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동된 특정세포이외의 나머지 세포를, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 이동된 특정세포와 분리시키는 단계;로 이루어지는 것을 특징으로 한다.

<42> 바람직하게는, 상기 형성 및 균질화된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포 이외의 나머지 세포들에 남아있던 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계 이전에, 상기 하판부를 이동하여 상기에서 형성 및 균질화된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성하는 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하는 단계;를 추가로 수행하여도 좋다.

<43> 이하에서 이 발명의 실시 예들에 따른 충 형태의 세포혼합액에 자력을 인가하여 분리된 세포의 순도를 높이는 방법에 대해 첨부된 도면들을 참조하여 상세하게 설명하면 다음과 같다.

<44> 이 발명의 실시 예들에 따른 분리된 세포의 순도를 높이는 방법을 구현하기 위해 사용되어지는 세포 분리 장치는, 도 1에 도시되어 있는 세포 분리 장치(10)와 동일하고 여기에 하판부 진동 발생수단(23)이 추가로 구성되어지는바, 이하에서는 동일한 부분의 상세한 설명은 생략하고 추가로 구성되어지는 세포혼합액으로부터 분리된 세포들의 순도를 높이기 위해 상기 세포 분리 장치(10) 내부에서 하판부(12)에 전달되는 진동을 발생시키는 예를 도시한 도 3a 및 도 3b의 하판부 진동 발생 수단(23)을 중심으로 설명한다.

<45> 상기 세포혼합액 충의 상판부(11) 측에서 자력을 인가하여 상판부(11) 측과 하판부(12) 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을 상기 상판부(11)로부터 하판부(12)가 멀어지게 이동하여 상기 상판부(11)와 하판부(12)에 각각 위치하게 분리시킨 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들 중에는 다른 세포들이 포함되지 않아야 한다.

<46> 그러나, 실제 분리된 이후의 상기 상판부(11)에는 특정세포가 상기 자석(13)에서 인가되는 자력에 의해 상기 상판부(11) 측으로 끌려 갈 때 함께 엉겨 붙어 있던 특정세포 이외의 나머지 세포들이 일부 포함되게 되고, 마찬가지로 상기 하판부(12)에도 특정세포 이외의 나머지 세포들이 중력에 의해 하판부(12) 측으로 내려갈 때 함께 엉겨 붙어 눌려 있던 특정세포가 일부 포함되게 된다.

<47> 이로부터, 이 발명의 실시 예에 따른 분리된 이후의 세포의 순도를 높이는 방법에서는, 균질화 과정을 수행하여 상기 상판부(11)에 특정세포와 함께 붙어있는 필요로 하지 않는 특정세포 이외의 나머지 세포들을 분리해 제거하거나, 상기 하판부(12)에 흡착되어 있는 필요로 하지 않는 특정세포를 분리해 제거한다.

<48> 상기의 균질화 과정 수행에서는, 필요로 하는 세포의 순도를 높이기 위해 수용액 내에 존재하는 세포들을 가능한 단일세포(single cell)상태로 만들어 주어야 한다.

<49> 만일 서로 엉켜 붙어 있을 경우, 예를 들어 10 개의 세포 중에 필요로 하지 않는 세포가 1 개 만인 경우에도 나머지 9 개도 함께 붙어 있는 상태로 분리되어져 상대적으로 분리 효율의 저하를 초래하게 된다.

<50> 이 발명의 실시 예들에서 적용하는 균질화 과정은, 세부적으로 1) 균질화 초기(initiation), 2) 균질화 과도기(transient state) 및 3) 균질화 안정기(saturation)로 구분할 수 있다.

<51> 먼저, 1) 균질화 초기는 균질화가 일어나기 위해 하나로 뭉쳐 있던 커다란 세포 덩어리가 외부 진동에 반응하면서 서서히 작은 여러 덩어리 단위로 분리되기 시작하는 상태를 말한다.

<52> 다음으로, 2) 균질화 과도기는 상기의 균질화 초기를 거친 작은 여러 세포 덩어리들을 이루는 각각의 세포에게 진동 에너지가 전달되어 세포 간에 형성되었던 결합을 파괴시키면서 각각을 단일 세포 상태로 만들어 준다. 그와 동시에 수용액 전체로 분포되어져 간다.

<53> 마지막으로, 3) 균질화 안정기는 수용액 내에 존재해 있던 모든 세포 덩어리들이 단일 세포화가 되어져 용액 전체에 고르게 퍼져 있는 상태를 말한다.

<54> 이러한 균질화 과정을 수행하기 위해, 이 발명의 실시 예에서는 하판부(12)에 진동이 전달되도록 한다.

<55> 상기 하판부(12)에 진동을 전달시키기 위해 상기 세포 분리 장치(10)에서는, 도 3a에 도시되어 있는 바와 같이, 상기 세포 분리 장치(10)를 이루는 하우징 내의 일 측면이나 뒤 벽면에 스프링과 같은 탄성 부재를 매개로 하여 상하로 다수 결합 형성된 돌출부와, 이에 대응하면서 접촉되어지게 상기 하판부 이동수단(17)의 일 측이나 뒤 쪽으로 연장 형성된 돌출부로 이루어지는 하판부 진동 발생수단(23)을 구비한다.

<56> 이러한 상기 하판부 진동 발생수단(23)은, 도 3b에 도시되어 있는 바와 같이, 상기 세포 분리 장치(10)를 이루는 하우징 내의 일 측면이나 뒤 벽면에, 예를 들면 삼각 형상으로 상하로 다수 형성된 돌출부와, 이에 대응하면서 접촉되어지게 상기 하판부 이동수단(17)의 일 측이나 뒤 쪽에 스프링과 같은 탄성 부재를 매개로 하여 결합 형성된 돌출부로 이루어지게 하여도 좋다.

<57> 상기 하판부 진동 발생수단(23)은, 상기 하판부 이동수단(17)이 상부 또는 하부로 이동할 때 서로 대응하면서 접촉되게 위치하고 있는 상기 돌출부 간에 접촉이 일어나면서 발생되는 진동이 상기 하판부 이동수단(17)을 통해 상기 하판부(12)로 전달한다. 이러한 상기 하판부(12)로 전달되는 진동이 수용액에 가해지면서 균질화 과정이 진행된다.

<58> 상기 하판부 진동 발생수단(23)은, 예를 들면 하우징의 일 측면이나 뒤쪽 벽에 설치된 돌출부를 좌우 또는 전후로 이동 가능하게 하면서 균질화 과정의 수행 시에만 작동되게 설치한다.

<59> 도 4a 및 도 4b는 이 발명의 한 실시 예에 따른 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포의 순도를 높이는 과정을 도시한 흐름도이고, 도 5a 내지 도 5d는, 도 4a 및 도 4b의 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포의 순도를 높이기 위한 균질화 과정을 개념적으로 도시한 것이다.

<60> 상기 하판부(12)에 수용된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액을, 상기 하판부(12)의 상부에 마주하면서 위치하는 상판부(11)로 하판부(12)가 가까워지게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키고(S41), 상기 단계 S41에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부(11) 측에서 자력을 인가하여 세포 혼합액 층의 상판부(11) 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층의 하판부(12) 측으로 이동되어지게 한 후 (S42), 상기 단계 S42에서 세포혼합액 층의 상판부(11) 측과 하판부(12) 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부(11)로부터 하판부(12)가 멀어지게 이동하여 상기 상판부(11)와 하판부(12)에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들이 각각 위치하게 분리시키는 과정(S43)을 통해 상판부(11)에서 필요로 하는 특정세포를 분리해 낸다.

<61> 이 때, 상기 상판부(11)에 흡착되는 특정세포에는 특정세포 이외의 나머지 세포들이 일부 포함되므로, 상기 상판부(11)에 특정세포와 함께 붙어있는 필요로

하지 않는 특정세포 이외의 나머지 세포들을 분리해 제거하기 위해 다음 과정을 수행한다.

<62> 먼저, 특정세포와 함께 붙어있는 특정세포 이외의 나머지 세포들의 분리를 최적화시키는 환경을 조성하기 위해, 상기 단계 S43에서 분리되어 하판부(12)에 위치하는 특정세포 이외의 나머지 세포들을 모두 제거하거나 또는 새로운 하판부(12)로 교체한다.(도 5a)

<63> 그런데, 분리를 위해 한 번 사용했던 하판부(12)에서 특정세포 이외의 나머지 세포들이 포함된 세포혼합액을 제거한 후 다시 새로운 세포가 들어있지 않는 수용액을 주입 수용한다고 해도 사용된 하판부(12)에는 생각보다 많은 양의 세포들이 흡착되어 있으므로, 새로운 하판부(12)로 교체하여 다시 시작하는 것이 현재까지는 일반적이다.

<64> 상기에서 비워진 하판부(12)의 세포혼합액 수용부(15)에 어떠한 세포들도 들어있지 않은 순수 수용액을 주입 수용한 후 특정세포가 존재하는 상판부(11)로 하판부(12)가 진동하면서 가까워지게 이동하여(도 5b) 상판부(11)와 하판부(12)의 용액을 접촉시켜(도 5c) 특정세포 수용액 층을 형성 및 균질화(도 5d)시킨다.(S44)

<65> 여기서, 특정세포 수용액 층을 형성 및 균질화 하는 과정에서 수동으로 또는 상기 제어부(18)의 제어에 의해 상기 하판부 이동수단(17)이 상부로 이동할 때 상기 하우징 내의 일 측면이나 뒤 벽면과 상기 하판부 이동수단(17)의 일 측면이나 뒤쪽에 형성되어 서로 대응하여 위치하고 있는 돌출부 간에 접촉이 이루어지면서 상기 하판부 진동 발생수단(23)에서 발생하는 진동이 상기 하판부 이동수단(17)을

통해 상기 하판부(12)로 전달된다.

<66> 구체적으로, 분리된 특정세포의 순도를 높이고자 하는 상판부(11)에 직접적으로 진동이 전달되지 않는 경우에 균질화 과정은, 먼저 상기 상판부(11)의 특정 세포 수용액이 상기 하판부(12)에 있는 버퍼 수용액과 접촉하는 순간 특정세포 수용액 층 내부에 커다란 플로워를 일으킴으로써 초기 가 진행되고 이 상태로 과도기가 일부 진행된다.(도 5c) 그러나, 전체적으로 안정기까지 도달하지는 않는다.

<67> 다음으로, 상기 단계 S44에서 균질화시킨 특정세포 수용액 층을 이루는 상판부(11)와 하판부(12) 사이의 이격 거리를 조절하여 세포 분리를 최적화하는 상태로 유지시키면서(S45), 상기 이격 거리를 조절하기 위해 상기 하판부 이동수단(17)을 이동시킬 때에도 상기 하판부(12)에 진동이 전달되면서 어느 정도 균질화 안정기로 진행을 하지만, 여전히 일부 세포들은 단일 세포 상태가 아닌 작은 덩어리로 뭉쳐 있기도 한다.(도 5d)

<68> 이로부터, 균질화가 일부 진행되었기에 다시 최초의 세포 상태(자력과 중력에 의한 세포 분리가 종결된 상태)로 돌아가는데 걸리는 시간이 상대적으로 줄어들 수 있지만, 균질화 안정기에 일부만 도달한 채 분리를 진행하기 때문에 상대적으로 분리 효율이 저하될 수 있다.

<69> 따라서, 빠른 시간 내에 순도를 높이는 분리를 수행할 수 있으므로 분리하고자 하는 특정세포의 비율이 낮아 수차례 순도를 높이는 과정의 수행을 반복하여야 하는 경우에 유용하지만, 상대적으로 순도를 높이는 분리를 한 이후에도 커다란 효율 향상을 기대하기는 어렵게 된다.

<70> 다음으로, 상기 단계 S45에서 이격 거리가 조절된 특정세포 수용액 층의 상판부(11) 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 수용액 층의 상판부(11) 측으로 특정세포를 이동시키면서 이와 함께 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 수용액 층의 하판부(12) 측으로 이동되어지게 한다.(S46)

<71> 마지막으로, 상기 단계 S46에서 특정세포 수용액 층의 하판부(12) 측으로 이동된 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부(11)로부터 하판부(12)가 멀어지게 이동하여 특정세포 수용액 층의 상판부(11) 측으로 이동된 특정 세포와 분리시켜(S47), 필요로 하는 특정세포의 순도를 높일 수 있게 된다.

<72> 도 6a 및 도 6b는 이 발명의 다른 실시 예에 따른 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이는 과정을 도시한 흐름도이고, 도 7a 내지 도 7f는, 도 6a 및 도 6b의 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이기 위한 균질화 과정을 개념적으로 도시한 것이다.

<73> 이 발명의 다른 실시 예들에 따른 세포혼합액으로부터 분리된 특정세포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이는 과정은, 상기에서 설명한 이 발명의 한 실시 예에 따른 특정세포의 순도를 높이는 과정에서 특정세포가 위치하지 않은 하판부(12)에 진동을 전달하면서 이동시켜 분리된 특정세포의 순도를 높이던 것을, 특정세포 이외의 나머지 세포들이 위치하는 하판부(11)에 진동을 전달하면서 이동시켜 분리된 특정세포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이는 것에 차이가 있고, 그 이외의 나머지는 모두 동일하다.

<74> 즉, 상기 하판부(12)에 수용된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되

어 있는 세포혼합액을, 상기 하판부(12)의 상부에 마주하면서 위치하는 상판부(11) 사이에서 세포혼합액 층으로 형성시키고(S61), 상기 단계 S61에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부(11) 측에서 자력을 인가하여 세포혼합액 층의 상판부(11) 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층의 하판부(12) 측으로 이동되어지게 한 후(S62), 상기 단계 S62에서 세포혼합액 층의 상판부(11) 측과 하판부(12) 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부(11)로부터 하판부(12)를 멀어지게 하여 상기 상판부(11)와 하판부(12)에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들로 각각 분리시키는 과정(S63)을 통해 하판부(12)에서 필요로 하는 특정세포 이외의 나머지 세포들을 분리해 낸다.

<75> 이때, 상기 하판부(12)에 흡착되는 특정세포 이외의 나머지 세포들에는 특정세포가 일부 포함되므로, 상기 하판부(12)에 흡착되어 있는 필요로 하지 않는 특정세포를 분리해 내기 위해 다음 과정을 수행한다.

<76> 먼저, 특정세포 이외의 나머지 세포들과 함께 엉겨 붙어있는 특정세포의 분리를 최적화시키는 환경을 조성하기 위해, 상기 단계 S63에서 분리된 상판부(11)의 특정세포를 모두 제거하거나 또는 새로운 상판부(11)로 교체하고(도 7a) 특정세포 이외의 나머지 세포들이 분리되어 있는 상기 세포혼합액 수용부(15)에 세포들이 포함되어 있지 않은 버퍼 수용액을 상판부(11)로 이동한 특정세포를 보충하는 정도의 적정량을 주입 수용한 후(도 7b 및 도 7c) 상판부(11)로 하판부(12)가 진동하면서 가까워지게 이동하여 상판부(11)에 하판부(12)의 특정세포 이외의 나머지 세포

수용액이 접촉하면서(도 7d) 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성 및 균질화(도 7e 및 도7f)시킨다.(S64)

<77> 여기서, 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성 및 균질화 하는 과정에서 수동으로 또는 상기 제어부(18)의 제어에 의해 상기 하판부 이동수단(17)이 상부로 이동할 때 상기 하우징 내의 일 측면이나 뒤 벽면과 상기 하판부 이동수단(17)의 일 측면이나 뒤쪽에 형성되어 서로 대응하여 위치하고 있는 돌출부 간에 접촉이 이루어지면서 상기 하판부 진동 발생수단(23)에서 발생하는 진동이 상기 하판부 이동수단(17)을 통해 상기 하판부(12)로 전달된다.

<78> 구체적으로, 분리된 특정세포 이외의 나머지 세포들의 순도를 높이고자 하는 하판부(12)에 직접적으로 진동이 전달되는 경우에 균질화 과정으로는, 먼저 상기 하판부(12)에 추가의 버퍼 수용액이 주입 수용되는 순간에 내부 플로워에 의해 균질화 초기를 거치게 된다.(도 7b 및 도 7c)

<79> 다음으로, 상기 하판부 이동수단(17)이 이동하면서 상기 하판부 진동 발생수단(23)에서 발생하는 외부 진동을 상기 하판부(12)를 통해 전달받으면서(도 7d), 상기 하판부의 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층과 상기 상판부(11)가 접촉하는 순간 균질화 과도기가 진행되면서 단일 세포 상태로 만들어 간다.(도 7e)

<80> 다음으로, 상기 단계 S64에서 균질화시킨 특정세포 수용액 층을 이루는 상판부(11)와 하판부(12) 사이의 이격 거리를 조절하여 세포 분리를 최적화하는 상태로 유지시키는데(S65), 상기 이격 거리를 조절하기 위해 상기 하판부 이동수단(17)을 이동시킬 때에도 상기 하판부(12)에 진동이 전달되면서 완전한 균질화 안정

기로 진행(도 7f)한다.

<81> 이로부터, 단일 세포가 된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층은 자력에 의해 보다 확실한 특정 세포들이 수집될 수 있도록 함으로써 균질화 안정기 상태에 의해 분리 효율을 높일 수 있으나, 중력과 자력에 의해 다시 최초의 세포액 상태로 도달하는 데 걸리는 시간을 크게 하여 상대적인 것으로 균질화가 잘 될수록 시간이 많이 걸리게 되고, 이로 인하여 분리에 걸리는 전체 진행시간을 증가시키게 된다.

<82> 상기 단계 S65에서 이격 거리가 조절된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부(11) 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 수용액 층의 상판부(11) 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 수용액 층의 하판부(12) 측으로 이동되어지게 한다.(S66)

<83> 마지막으로, 상기 단계 S66에서 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부(11) 측과 하판부(12) 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을 상기 상판부(11)에서 하판부(12)를 멀어지게 이동하여, 상기 상판부(11)와 하판부(12)에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들로 각각 분리시켜(S67), 필요로 하는 특정세포 이외의 나머지 세포들의 분리 비율을 높일 수 있게 된다.

<84> 상기와 같은 이 발명의 실시 예에 따른 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 과정을 구체적으로 실현한 예는 다음과 같다.

<85> 먼저, 이 발명에서 설명하는 실험 예 1은, 최초 분리 후의 상판부(11)에 위치하는 세포혼합액(이하에서는, "포지티브 수용액"이라 함)과, 이 발명의 순도를

높이는 방법을 1회 실시한 후의 상판부(11)의 특정세포 수용액을 수거하여 특정세포(이하에서는, "포지티브"라 함)가 포지티브 수용액에 어느 정도 포함되어 있는가를 체크하여 포지티브 농축을 확인할 수 있게 한다.

<86> 기본적으로 실험 예 1에서 사용된 특정세포는 Sca1에 반응하는 세포들로서 분리하고자 하는 세포혼합액 내에 2.09% 존재하고, 상기 자석(13)에서 인가되는 자력에 노출된 시간은 10분에서 실험하였다.

<87> 실험 결과, 2.09%의 포지티브를 가지고 있는 세포를 대상으로 최초 분리하였을 때 포지티브의 경우 6.11%, 네거티브의 경우 2.87%로 확인되었다.

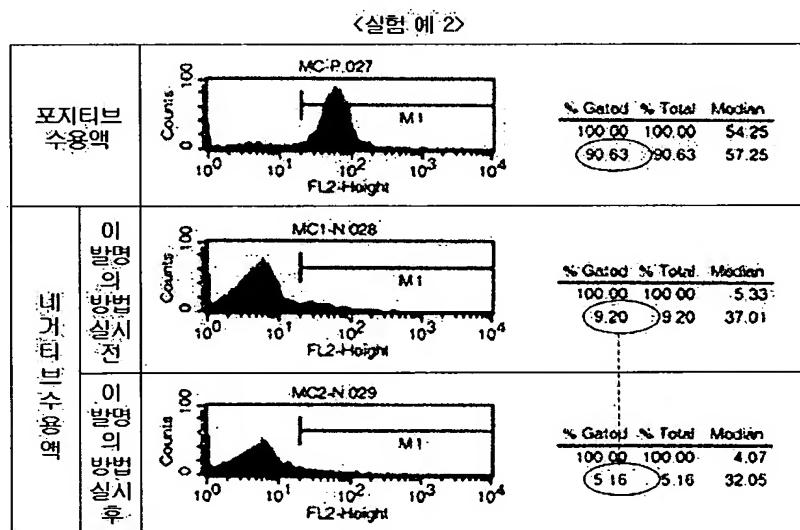
<88> 여기서, 최초로 분리된 6.11%의 포지티브들을 포함하고 있는 포지티브 수용액 속에서 네거티브를 제거하여 상대적으로 포지티브의 순도를 높여 농축시키기 위해 이 발명의 순도를 높이는 방법을 1회 실시하였는바, 그 비율은 각각 13.02%로서 최초 비율에 비해 약 113% 증가함을 확인하였다. 이와 같은 과정을 극소량의 포지티브가 존재하는 세포혼합액에서 포지티브가 90% 이상이 될 때 까지 다수 회 반복한다.

<89> 다음으로, 이 발명에서 설명하는 실험 예 2는, 최초 분리 후의 하판부(12)의 세포 혼합액(이하에서는, "네거티브 수용액"이라 함)과, 이 발명의 순도를 높이는 방법을 1회 실시한 후의 하판부(12)의 특정세포 수용액을 수거하여 포지티브가 특정세포 이외의 나머지 세포들(이하에서는, "네거티브"라 함)이 들어 있는 네거티브 수용액에 어느 정도 포함되어 있는가를 체크하여 분리 에러를 확인할 수 있게 한다.

<90> 기본적으로 실험 예 2에서 사용된 특정세포는 Ter119의 항체에 반응하는 세포들로서 분리하고자 하는 세포혼합액 내에 13.30% 존재하고, 상기 자석(13)에서 인가되는 자력에 노출된 시간은 7분으로 한다.

<91> 표 1에서 알 수 있는 바와 같이, 자력에 7분간 노출시켰을 때, MC-P.027은 최초로 분리하고 난 후 상판부(11)의 포지티브 수용액 상태를 측정한 것으로 90.63%의 분리 효율을 보였다. 그와 동시에 하판부(12)의 네거티브 수용액에는 9.20%의 포지티브들이 포함되어져 있음을 MC1-N.028을 통해 알 수 있다.

【표 1】



<93> 여기서, 최초로 분리된 9.2%의 포지티브들을 포함하고 있는 네거티브 수용액 속에서 포지티브를 제거하여 상대적으로 네거티브의 순도를 높이기 위해 이 발

명의 분리 효율 향상 방법을 1회 실시하였는바, 네거티브 수용액(MC1-N.0.28) 내에 포지티브를 에러로 생각하여 조사된 비율이 최초 비율(9.2%) 보다 4.04%가 떨어진 5.16%를 확인할 수 있었다.

<94> 이로 인해, 네거티브 수용액 속에 에러로 포함되어 있던 포지티브는 약 43.9%의 감소함과 동시에 네거티브는 상대적으로 약 4.4%의 순도가 높아지게 됨을 확인하였다.

<95> 이 발명은 상기의 실시 예들에 한정되지 않으며, 특허청구범위에 기재되는 발명의 범위 내에서 다양한 변형이 가능하고, 이러한 변형도 이 발명의 범위 내에 포함된다.

【발명의 효과】

<96> 이상에서 상세하게 설명한 바와 같이, 이 발명의 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법에 의하면, 분리된 세포 내에 함께 붙어있는 필요로 하지 않은 세포들에 진동을 가하여 균질화시키는 과정을 통해 간편하게 제거하여 필요로 하는 특정세포의 순도를 높일 수 있게 된다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하판부에 수용된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액을, 상기 하판부의 상부에 마주하면서 위치하는 상판부로 하판부가 가까워지게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키는 단계와;

상기 단계에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부 측에서 자력을 인가하여 세포혼합액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 이와 함께 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계;

상기 단계에서 세포혼합액 층의 상판부 측과 하판부 측으로 이동된 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 상기 상판부와 하판부에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들이 각각 위치하게 분리시키는 단계;

상기 단계에서 특정세포 이외의 나머지 세포들이 위치하게 분리된 하판부에서 나머지 세포들을 제거하거나 새로운 하판부로 교체하고, 어떠한 세포도 들어있지 않은 순수한 수용액을 상기 하판부에 주입 수용한 후 상기 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 특정세포 수용액 층을 형성 및 균질화시키는 단계;

상기 단계에서 형성 및 균질화시킨 특정세포 수용액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서

중력에 의해 특정세포에 남아있던 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계; 및,

상기 단계에서 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 이동된 특정 세포를, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 특정세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동된 특정 세포 이외의 나머지 세포들과 분리시키는 단계;로 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법 .

【청구항 2】

제 1항에 있어서,

상기 균질화시킨 특정세포 수용액 층의 상기 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계 이전에, 상기 하판부를 이동하여 상기에서 균질화된 특정세포 수용액 층을 형성하는 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하는 단계;를 추가로 수행하는 것을 특징으로 하는 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법 .

【청구항 3】

하판부에 수용된 마그네틱 비드가 부착된 특정세포가 혼합되어 있는 세포혼합액을, 상기 하판부의 상부에 마주하면서 위치하는 상판부로 하판부가 가까워지게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키는 단계와;

상기 단계에서 형성된 세포혼합액 층의 상기 상판부 측에서 자력을 인가하여 세포혼합액 층의 상판부 측으로 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 세포혼합액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계;

상기 단계에서 세포혼합액 층의 상판부 측과 하판부 측으로 이동된 특정세포 와 특정세포 이외의 나머지 세포들을, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 상기 상판부와 하판부에 특정세포와 특정세포 이외의 나머지 세포들이 각각 위치하게 분리시키는 단계;

상기 단계에서 특정세포가 위치하게 분리된 상판부에서 특정세포를 제거하거나 새로운 상판부로 교체하고, 어떠한 세포도 들어있지 않은 순수한 수용액을 상기 하판부에 적정량 보충 주입 수용한 후 상기 상판부로 하판부가 진동하면서 가까워지게 이동하여 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성 및 균질화시키는 단계;

상기 단계에서 형성 및 균질화된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포 이외의 나머지 세포들에 남아있던 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계; 및,

상기 단계에서 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동된 특정 세포이외의 나머지 세포를, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 특정세포 수용액 층의 상판부 측으로 이동된 특정 세포와 분리시키는 단계;로

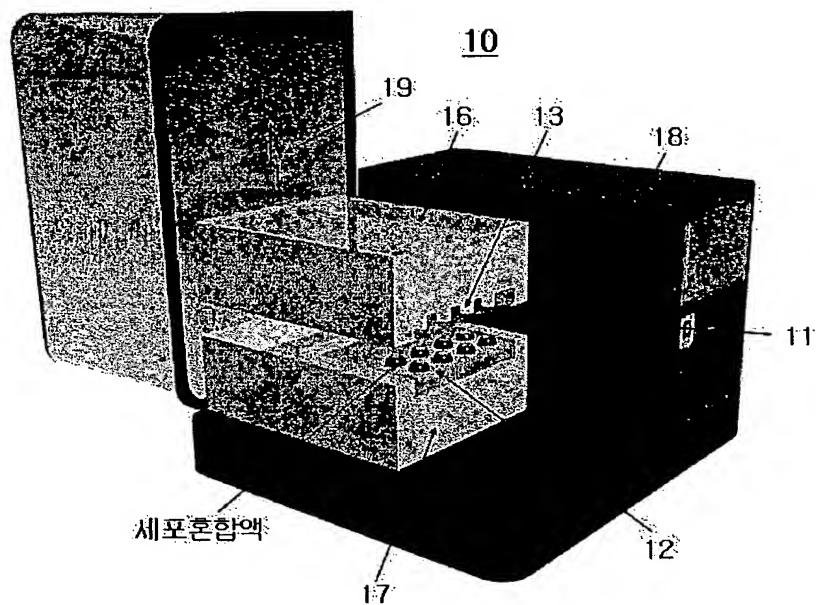
이루어지는 것을 특징으로 하는 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법.

【청구항 4】

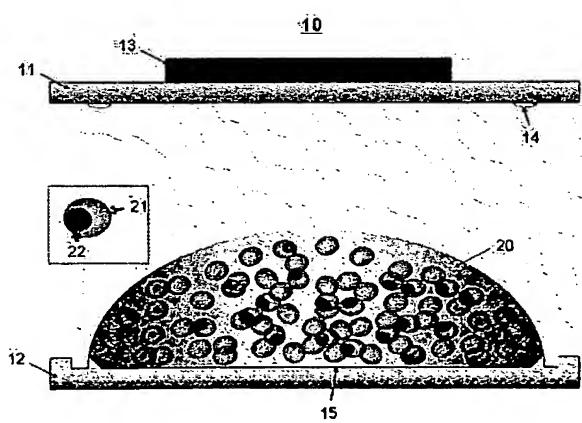
제 3항에 있어서,
상기 형성 및 균질화된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 상판부 측으로 특정세포 이외의 나머지 세포들에 남아있던 특정세포를 이동시키면서 중력에 의해 특정세포 이외의 나머지 세포들을 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층의 하판부 측으로 이동되어지게 하는 단계 이전에, 상기 하판부를 이동하여 상기에서 형성 및 균질화된 특정세포 이외의 나머지 세포 수용액 층을 형성하는 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하는 단계;를 추가로 수행하는 것을 특징으로 하는 세포혼합액 층에 자력을 인가하여 분리시킨 세포의 순도를 높이는 방법.

【도면】

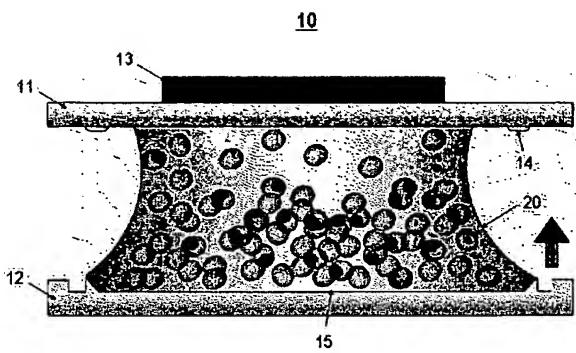
【도 1】



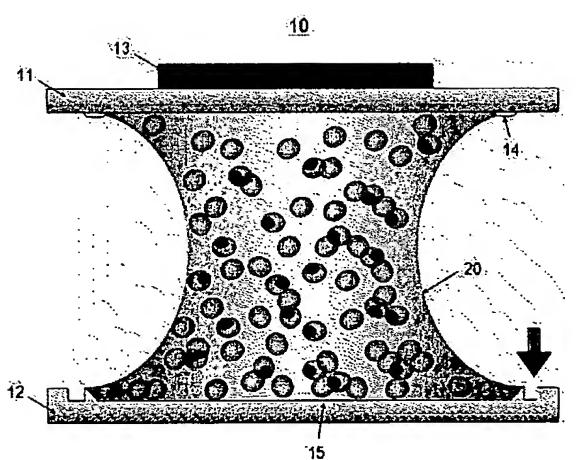
【도 2a】



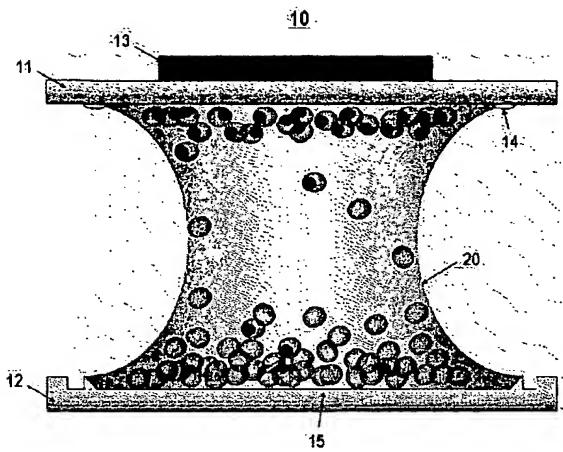
【도 2b】



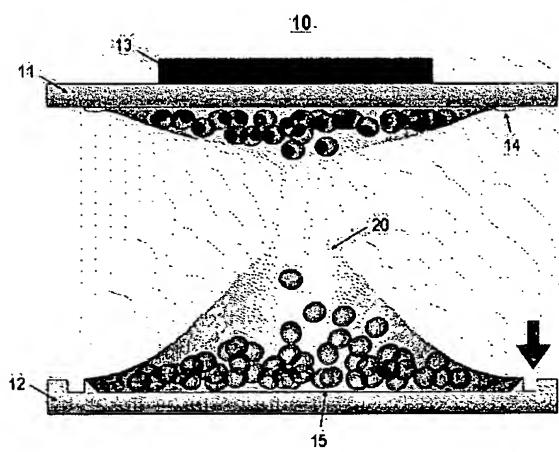
【도 2c】



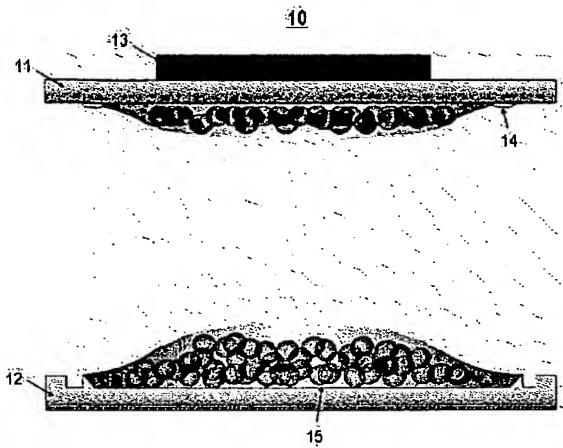
【도 2d】



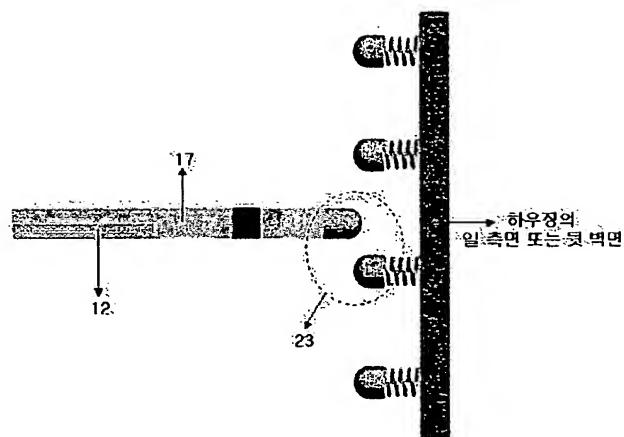
【도 2e】



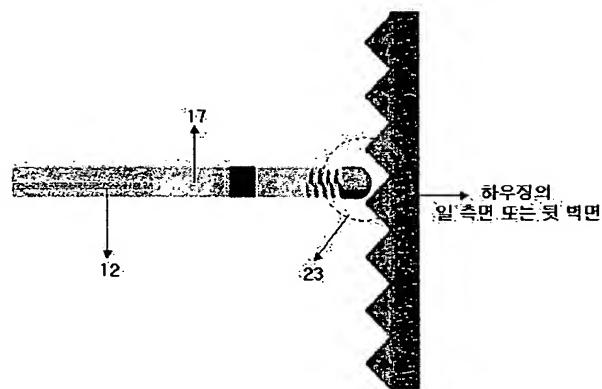
【도 2f】



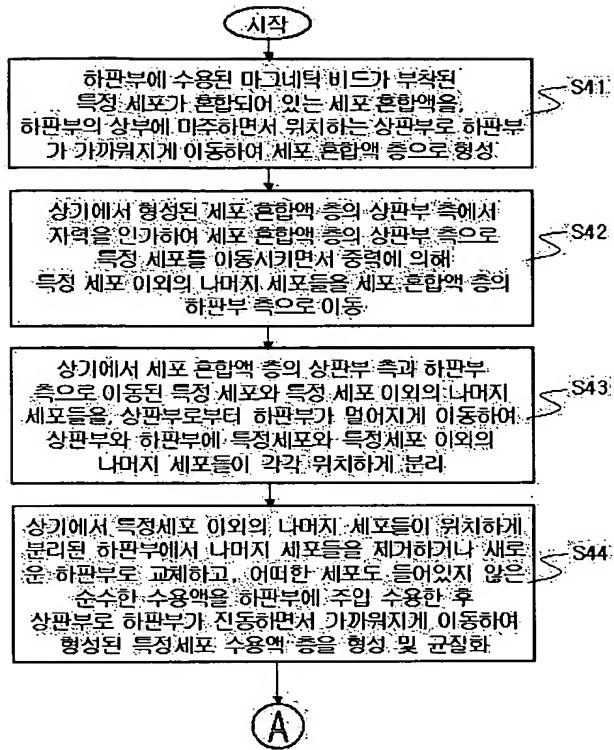
【도 3a】



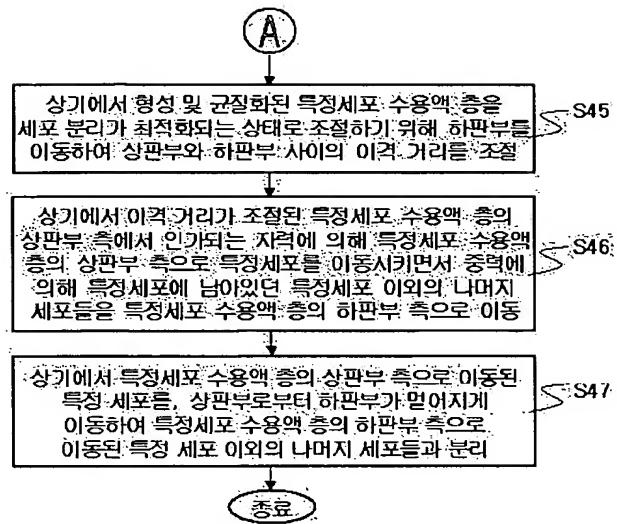
【도 3b】



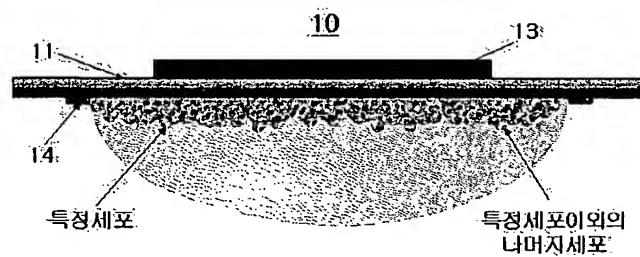
【도 4a】



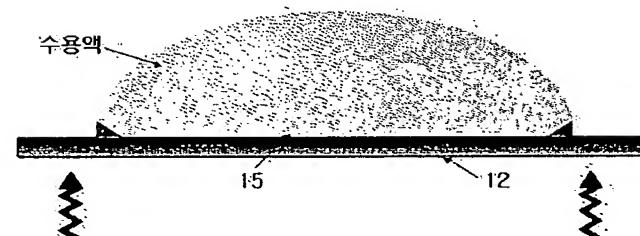
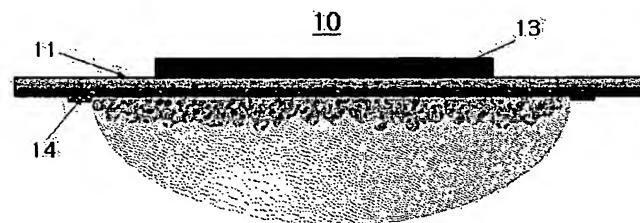
【도 4b】



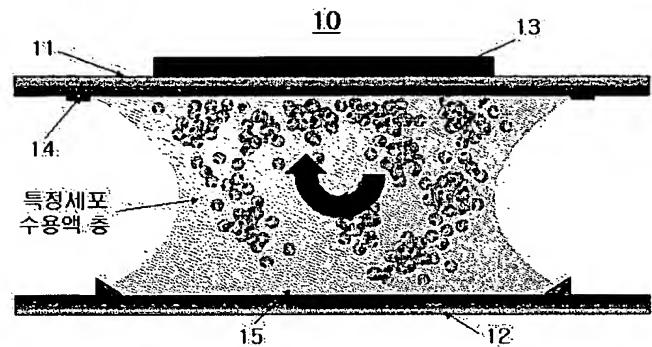
【도 5a】



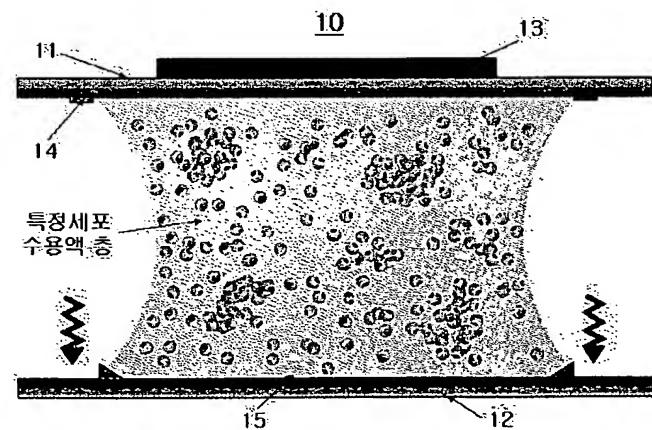
【도 5b】



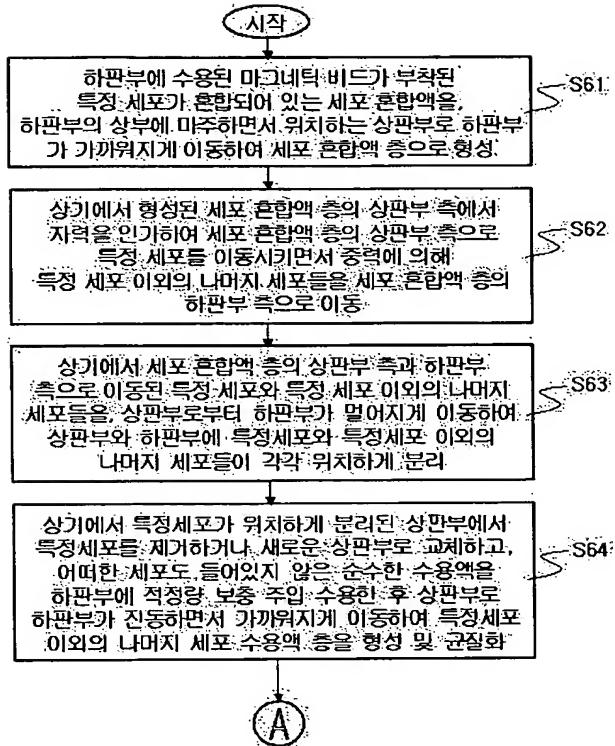
【도 5c】



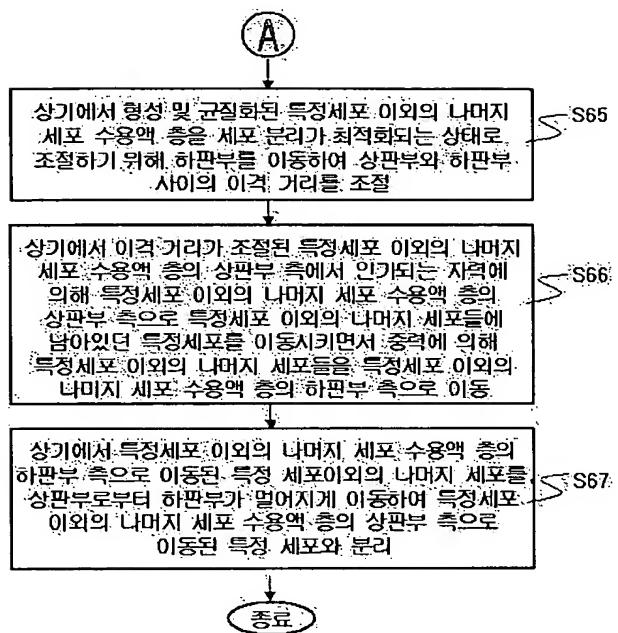
【도 5d】



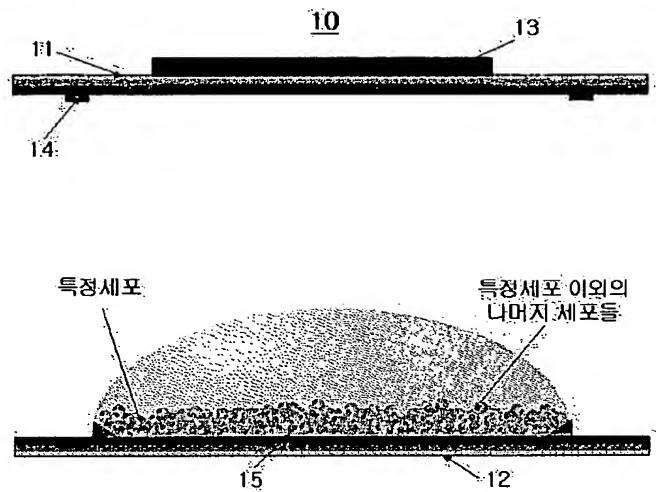
【도 6a】



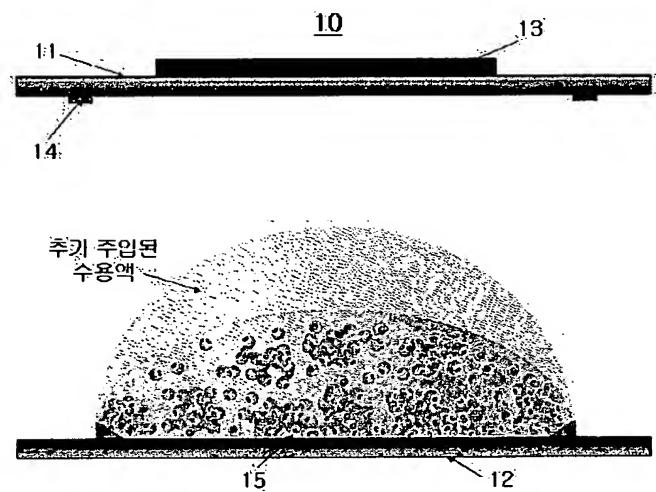
【도 6b】



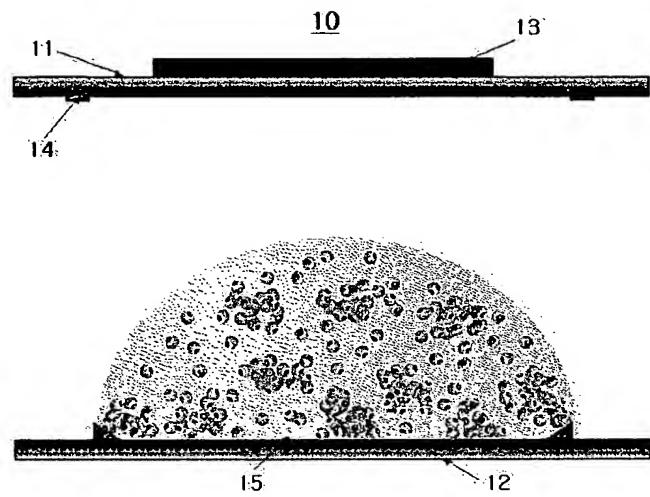
【도 7a】



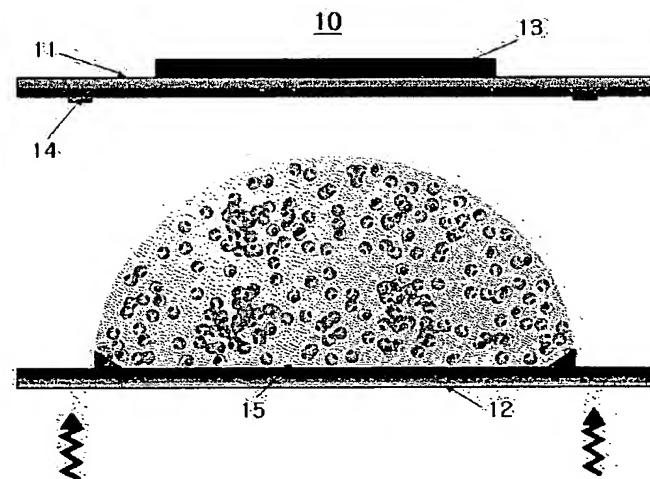
【도 7b】



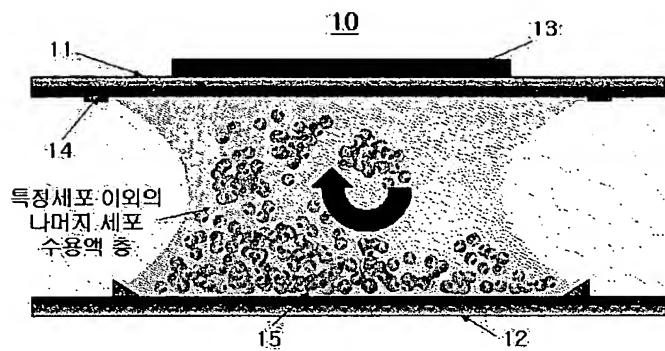
【도 7c】



【도 7d】



【도 7e】



【도 7f】

